



| | | |
|--|--|--|
| (51) 国際特許分類7 C07K 14/47, C12N 15/12, C07K 16/18, C12P 21/08 // C12N 1/21, C12P 21/02, (C12N 15/12, C12R 1:91) (C12P 21/02, C12R 1:19) | A1 | (11) 国際公開番号 WO00/29436 (43) 国際公開日 2000年5月25日(25.05.00) |
| (21) 国際出願番号 PCT/JP99/06309 (22) 国際出願日 1999年11月12日(12.11.99) (30) 優先権データ 特願平10/322674 1998年11月12日(12.11.98) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 科学技術振興事業団(JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION)[JP/JP] 〒332-0012 埼玉県川口市本町4丁目1番8号 Saitama, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 菅村和夫(SUGAMURA, Kazuo)[JP/JP] 田中伸幸(TANAKA, Nobuyuki)[JP/JP] 〒980-0872 宮城県仙台市青葉区星陵町2-1 東北大学医学部内 Miyagi, (JP) (74) 代理人 弁理士 西澤利夫(NISHIZAWA, Toshio) 〒150-0042 東京都渋谷区宇田川町37-10 麻仁ビル6階 Tokyo, (JP) | (81) 指定国 AU, CA, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE) 添付公開書類 国際調査報告書 請求の範囲の補正の期限前の公開 ; 補正書受領の際には再公 開される。 | |
| (54)Title: PROTEIN AMSH AND CDNA THEREOF (54)発明の名称 タンパク質AMSHとそのcDNA (57) Abstract A human protein AMSH containing the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:1 which is a novel signal transducer interacting with the SH3 domain of a cytokine signal transducer STAM; a gene encoding the above AMSH; a cDNA containing the base sequence represented by SEQ ID NO:2; and an antibody against AMSH. | | |

(57)要約

この出願は、サイトカイン系シグナル伝達物質 STAM の SH3 ドメインに相互作用する新規シグナル伝達物質として、配列番号 1 のアミノ酸配列を含むヒトタンパク質 AMSH を提供する。またこの出願は、この AMSH をコードする遺伝子、配列番号 2 の塩基配列を含む cDNA、AMSH に対する抗体を提供する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

| | | | | | | | |
|----|--------------|----|---------|----|-----------------------|----|------------|
| AE | アラブ首長国連邦 | DM | ドミニカ | KZ | カザフスタン | RU | ロシア |
| AL | アルバニア | EE | エストニア | LC | セントルシア | SD | スーダン |
| AM | アルメニア | ES | スペイン | LI | リヒテンシュタイン | SE | スウェーデン |
| AT | オーストリア | FI | フィンランド | LK | スリ・ランカ | SG | シンガポール |
| AU | オーストラリア | FR | フランス | LR | リベリア | SI | スロヴェニア |
| AZ | アゼルバイジャン | GA | ガボン | LS | レソト | SK | スロヴァキア |
| BA | ボスニア・ヘルツェゴビナ | GB | 英国 | LT | リトアニア | SL | シエラ・レオネ |
| BB | バルバドス | GD | グレナダ | LU | ルクセンブルグ | SN | セネガル |
| BE | ベルギー | GE | グルジア | LV | ラトヴィア | SZ | スワジランド |
| BF | ブルキナ・ファソ | GH | ガーナ | MA | モロッコ | TD | チャード |
| BG | ブルガリア | GM | ガンビア | MC | モナコ | TG | トーゴ |
| BJ | ベナン | GN | ギニア | MD | モルドヴァ | TJ | タジキスタン |
| BR | ブラジル | GW | ギニア・ビサウ | MG | マダガスカル | TZ | タンザニア |
| BY | ベラルーシ | GR | ギリシャ | MK | マケドニア旧ユーゴスラヴィア 共和国 | TM | トルクメニスタン |
| CA | カナダ | HR | クロアチア | ML | マリ | TR | トルコ |
| CF | 中央アフリカ | HU | ハンガリー | MN | モンゴル | TT | トリニダード・トバゴ |
| CG | コンゴ | ID | インドネシア | MR | モーリタニア | UA | ウクライナ |
| CH | スイス | IE | アイルランド | MW | マラウイ | UG | ウガンダ |
| CI | コートジボアール | IL | イスラエル | MX | メキシコ | US | 米国 |
| CM | カメルーン | IN | インド | NE | ニジェール | UZ | ウズベキスタン |
| CN | 中国 | IS | アイスランド | NL | オランダ | VN | ヴェトナム |
| CR | コスタ・リカ | IT | イタリア | NO | ノルウェー | YU | ユーゴスラビア |
| CU | キューバ | JP | 日本 | NZ | ニュージーランド | ZA | 南アフリカ共和国 |
| CY | キプロス | KE | ケニア | PL | ポーランド | ZW | ジンバブエ |
| CZ | チェコ | KG | キルギスタン | PT | ポルトガル | | |
| DE | ドイツ | KP | 北朝鮮 | RO | ルーマニア | | |
| DK | デンマーク | KR | 韓国 | | | | |

明細書

タンパク質 AMSH とその cDNA

5 技術分野

この出願は、ヒトおよびマウスのタンパク質 hAMSH および mAMSH と、これらのタンパク質をコードする cDNA に関するものである。さらに詳しくは、この出願は、ヒトおよびマウス細胞における新規なシグナル伝達分子 AMSH と、これらのタンパク質をコードするヒトおよびマウス遺伝、それらの cDNA、ならびにタンパク質
10 に対する抗体に関するものである。

背景技術

造血、免疫、神経系等の生体高次機能の発現には、機能の異なる多種多様な細胞が共同して作用する必要がある、そのためには細胞間のコミュニケーションが不可欠である。サイトカインは、このような細胞間のコミュニケーションを担うタンパク質であり、インターロイキン (IL) -1~18、コロニー刺激因子 (CSF)、インターフェロン (IFN)、ケモカイン等の各分子が知られている。
15

サイトカインが細胞膜上の特異的受容体に結合することによって細胞内にシグナルが発生し、このシグナル伝達によって細胞の生存、増殖、分化、機能発現等が制御されている。従って、サイトカインー受容体ーシグナル伝達の一連の作用に機能不全が生じた場合には生体防御に関わる免疫、造血系が破綻し、重症感染症、がん、自己免疫疾患等が惹起される。
20

このような理由から、サイトカインとその受容体、および細胞内シグナル伝達経路の解明は、細胞の増殖や分化といった基本的な現象を分子レベルで理解するため、そしてさらには各種の疾患の原因解明、診断、治療法等を開発するためにも極めて重要である。
25

この出願の発明者らは、これまでにサイトカイン受容体の中で、複数のサイトカインに共有される「共有 γ 鎖」の遺伝子単離を行い、サイトカイン受容体の構造と機

能の解明に大きく貢献している。特に、 γ 鎖が IL-2、IL-4、IL-7 および IL-9 の機能発現に必須の受容体サブユニットであり、ヒト X 連鎖重症複合免疫不全症において γ 鎖変異が IL-7 の機能不全を介して T 細胞初期発生障害を惹起していることなどを明らかにしている (Science, 262:1874-1877, 1993; Int. Immunol., 6:1451-1454, 1994; 5 Science, 263:1453-1454, 1994; Eur. J. Immunol., 25:3001-3005, 1995)。

最近、この出願の発明者らは、サイトカインによる細胞内増殖シグナル伝達に關与する新たなシグナル分子として「STAM」を同定し、この STAM が IL-2/GM-CSF 受容体の下流に存在して JAK3/2 と直接会合し、かつ c-myc 発現と DNA 合成のシグナル伝達に重要な役割を果たしていることを見出している (Immunity, 6:449-457, 10 1997)。

以上のとおり、この出願人の発明者らによって、サイトカインの受容体結合による細胞内シグナル伝達経路の重要な幾つかの機構が明らかにされつつあるが、その全体の構造と機能を解明するためには、さらなる新規分子の同定が不可欠である。シグナル伝達経路は、複数の分子が連続的かつ複合的に關与し、いわゆるカスケードを構成することによって最終的な機能発現に到達すると考えられるからである。 15

この出願は、以上のとおりの事情に鑑みてなされたものであって、この出願の発明者らが見出したシグナル分子 STAM の SH3 ドメインと相互作用し、STAM より下流のシグナル伝達に必須の作用を及ぼす新規のシグナル伝達分子を提供することを目的としている。

20 この出願はまた、この新規分子の遺伝子とその cDNA、およびこの新規分子に対する抗体等を提供することを目的としている。

発明の開示

この出願は、上記の課題を解決する発明として、配列番号 1 のアミノ酸配列を有するヒトタンパク質 hAMSH を提供する。 25

また、この出願は、上記のヒトタンパク質 hAMSH をコードするヒト遺伝子、この遺伝子の cDNA であって、配列番号 2 の塩基配列を含む cDNA、並びに配列番号 2 の一部配列からなる DNA 断片を提供する。

さらにまた、この出願は、上記 cDNA またはその一部配列を保有する組換えベクター、および上記のヒトタンパク質 hAMSH に対する抗体を提供する。

この出願は、また、配列番号 3 のアミノ酸配列を有するマウスタンパク質 mAMSH、この mAMSH をコードするマウス遺伝子、この遺伝子の cDNA であって、配列番号
5 4 の塩基配列を含む mAMSHcDNA、配列番号 4 の一部配列からなる DNA 断片、この cDNA またはその一部配列を保有する組換えベクター、および mAMSH に対する抗体を提供する。

発明を実施するための最良の形態

10 先ず、この発明のヒトタンパク質 hAMSH およびその cDNA について、取得の経緯および機能について説明する。

この発明のヒトタンパク質 hAMSH の cDNA は、発明者等が既に同定している STAM 遺伝子の SH3 ドメインとグルタチオン S 転フェラーゼ (GST) とのキメラ遺伝子を用いて、ファウエスタン法により、ヒト cDNA ライブラリーをスクリーニ
15 ングすることによって単離されたヒト遺伝子 cDNA である。この cDNA は、配列番号 2 に示した 1910 塩基対からなるヌクレオチド配列を有しており、配列番号 1 にアミノ酸配列を示したタンパク質 hAMSH をコードしている。

このタンパク質 hAMSH は、分子内に推定核移行シグナルと JAB1 類似構造が確認されたが、タンパク質データベースには対応する分子が存在しないことから、新規
20 分子であることが確認された。

このタンパク質 hAMSH が、サイトカイン受容体の下流において STAM と会合することによって、細胞増殖シグナル伝達に係わっている新規分子であることは、以下によって確認されている。

(1) hAMSH の C 端半分の領域を欠失した AMSH-dc2 が IL-2 や GM-CSF 刺激後の DNA
25 合成シグナル伝達を抑制すること。

(2) 上記 AMSH-dc2 変異体が IL-2 や GM-CSF 刺激後の c-myc 誘導シグナル伝達を抑制すること。

また、この発明のマウスタンパク質 mAMSH の cDNA は、前記 hAMSHcDNA をブ

ローブとしてマウス cDNA ライブラリーをスクリーニングすることによって単離されたマウス遺伝子 cDNA である。この cDNA は、配列番号 4 に示した 1384 塩基対からなるヌクレオチド配列を有しており、配列番号 2 にアミノ酸配列を示したタンパク質 mAMSH をコードしている。

5 この発明のタンパク質 hAMSH および mAMSH は、公知の方法、すなわちヒトまたはマウスの臓器、細胞株などから単離する方法、この発明によって提供されるアミノ酸配列に基づき化学合成によってペプチドを調製する方法、あるいはこの発明によって提供される cDNA 断片を用いて組換え DNA 技術で生産する方法などにより取得することができる。例えば、組換え DNA 技術によってタンパク質 hAMSH を取得する場合には、配列番号 2 の cDNA 断片を有するベクターからインビトロ転写によって RNA を調製し、これを鋳型としてインビトロ翻訳を行なうことによりインビトロで発現できる。また翻訳領域を公知の方法により適当な発現ベクターに組換えれば、大腸菌、枯草菌、酵母、動植物細胞等で、cDNA がコードしているタンパク質を大量に発現させることができる。

15 この発明のタンパク質をインビトロ翻訳で DNA を発現させて生産する場合には、前記 cDNA またはその翻訳領域を RNA ポリメラーゼプロモーターを有するベクターに組換え、プロモーターに対応する RNA ポリメラーゼを含むウサギ網状赤血球溶解物や小麦胚芽抽出物などのインビトロ翻訳系に添加すれば、この発明のタンパク質をインビトロで生産することができる。RNA ポリメラーゼプロモーターとしては、T6、
20 T3、SP6 などが例示できる。これらの RNA ポリメラーゼプロモーターを含むベクターとしては、pKA1、pCDM8、pT3/7 18、pT7/3 19、pBluescript II などが例示できる。

この発明のタンパク質を大腸菌などの微生物で生産する場合には、微生物中で複製可能なオリジン、プロモーター、リボソーム結合部位、cDNA クローニング部位、ターミネーター等を有する発現ベクターに、この発明の cDNA またはその翻訳領域
25 を挿入して発現ベクターを作成し、この発現ベクターで宿主細胞を形質転換したのち、得られた形質転換体を培養すれば、この cDNA がコードしているタンパク質を微生物内で大量生産することができる。この際、任意の翻訳領域の前後に開始コドンと停止コドンが付加して発現させれば、任意の領域を含むタンパク質分子を得る

ことができる。あるいは、他のタンパク質との融合蛋白質として発現させ、この融合蛋白質を適当なプロテアーゼで切断することによって目的タンパク質部分のみを取得することもできる。大腸菌用発現ベクターとしては、pUC 系、pBluescript II、pET 発現システム、pGEX 発現システムなどが例示できる。

- 5 この発明のタンパク質を真核細胞で生産する場合には、この cDNA またはその翻訳領域を、プロモーター、スプライシング領域、ポリ(A)付加部位等を有する真核細胞用発現ベクターに挿入し、この組換えベクターを真核細胞内に導入することによって、この発明のタンパク質を動物細胞内で生産することができる。発現ベクターとしては、pKA1、pCDM8、pSVK3、pMSG、pSVL、pBK-CMV、pBK-RSV、EBV ベクター、pRS、pYES2 などが例示できる。真核細胞としては、サル腎臓細胞 COS7、
10 チャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO などの哺乳動物培養細胞、出芽酵母、分裂酵母、カイコ細胞、アフリカツメガエル卵細胞などが一般に用いられるが、この発明のタンパク質を発現できるものであれば、いかなる真核細胞でもよい。発現ベクターを真核細胞に導入するには、電気穿孔法、リン酸カルシウム法、リポソーム法、
15 D E A E デキストラン法など公知の方法を用いることができる。

- この発明のタンパク質を微生物や真核細胞で発現させたのち、培養物から目的タンパク質を単離精製するためには、公知の分離操作を組み合わせで行うことができる。例えば、尿素などの変性剤や界面活性剤による処理、超音波処理、酵素消化、塩析や溶媒沈殿法、透析、遠心分離、限外濾過、ゲル濾過、SDS-PAGE、等電点電
20 気泳動、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィーなどが挙げられる。

- この発明のタンパク質 hAMSH および mAMSH には、配列番号 1 および 3 で各々表されるアミノ酸配列のいかなる部分アミノ酸配列を含むペプチド断片（5 アミノ酸残基以上）も含まれる。これらのペプチド断片は抗体を作製するための抗原として用いることができる。また、この発明のタンパク質には、他の任意のタンパク質
25 との融合蛋白質も含まれる。

この発明の遺伝子は、上記タンパク質をコードするヒトの遺伝子であって、例えば、この発明の cDNA またはその一部配列をプローブとして、既存のゲノムライブ

ラリーから単離することができる。

この発明の cDNA は、配列番号 2 および 4 の塩基配列に基づいて合成したオリゴヌクレオチドプローブを用いて、各々ヒト細胞またはマウス細胞由来の cDNA ライブラリーを公知のコロニーあるいはブラークハイブリダイゼーションによってスクリーニングすることにより得ることができる。また、cDNA 断片の両末端にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを合成し、これをプライマーとして用いて、ヒト細胞またはマウス細胞から単離した mRNA から RT-PCR 法により、この発明の cDNA 断片を調製することもできる。

一般に動物遺伝子は個体差による多型が頻繁に認められる。従って配列番号 2 または 4 において、1 または複数個のヌクレオチドの付加、欠失および／または他のヌクレオチドによる置換がなされている cDNA もこの発明の cDNA に含まれる。

同様に、これらの変更によって生じる、1 または複数個のアミノ酸の付加、欠失および／または他のアミノ酸による置換がなされているタンパク質も、配列番号 1 または 3 で表されるアミノ酸配列を有するタンパク質の活性を有する限り、この発明のタンパク質に含まれる。

この発明の DNA 断片には、配列番号 2 または 4 で表される塩基配列のいかなる部分塩基配列を含む cDNA 断片（10bp 以上）も含まれる。また、センス鎖およびアンチセンス鎖からなる DNA 断片もこの範囲に入る。これらの DNA 断片は遺伝子診断用のプローブ等として用いることができる。

この発明のタンパク質に対する抗体は、タンパク質それ自体、またはその部分ペプチドを抗原として、公知の方法によりポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体として得ることができる。

実施例

hAMSHcDNA の一部（配列番号 2 の 383-550：配列番号 1 のアミノ酸番号 125-180 に対応）を PCR にて増幅し、GST 融合タンパク質発現ベクターに挿入した。このベクターを宿主大腸菌に導入して形質転換し、この形質転換体を IPTG にて刺激し、GST 融合タンパク質の発現を誘導した。誘導された融合タンパク質をグルタチオンカラ

ムにてアファニティー精製し、純化された GST 融合タンパク質を得た。この GST 融合タンパク質を抗原として家兎に定法により免疫を行い、抗血清を得た。

産業上の利用可能性

- 5 以上詳しく説明したとおり、この発明によって、サイトカイン系シグナル伝達経路に關与する新規のシグナル伝達分子とその遺伝子操作材料が提供される。これらの分子および遺伝子操作材料は、重症感染症、がん、自己免疫疾患等のサイトカイン系シグナル伝達経路の機能障害によるヒト疾患の診断や治療のための方法、薬剤等の開発に有用である。

請求の範囲

1. 配列番号 1 のアミノ酸配列を有するヒトタンパク質 hAMSH。
- 5 2. 請求項 1 のヒトタンパク質 hAMSH をコードするヒト遺伝子。
3. 請求項 2 のヒト遺伝子の cDNA であって、配列番号 2 の塩基配列を有する hAMSHcDNA。
- 10 4. 配列番号 2 の塩基配列における一部配列からなる DNA 断片。
5. 請求項 3 の hAMSHcDNA または請求項 4 の DNA 断片を保有する組換えベクター。
- 15 6. 請求項 1 のヒトタンパク質 hAMSH に対する抗体。
7. 配列番号 3 のアミノ酸配列を有するマウスタンパク質 mAMSH。
8. 請求項 7 のマウスタンパク質 mAMSH をコードするマウス遺伝子。
- 20 9. 請求項 8 のマウス遺伝子の cDNA であって、配列番号 4 の塩基配列を有する mAMSHcDNA。
10. 配列番号 4 の塩基配列における一部配列からなる DNA 断片。
- 25 11. 請求項 9 の mAMSHcDNA または請求項 10 の DNA 断片を保有する組換えベクター。

12. 請求項 7 のマウスタンパク質 mAMSH に対する抗体。

配列表

SEQUENCE LISTING

<110> Japan Science and Technology Corporation

<120> タンパク質 AMSH

5 <130> 99-F-054PCT/YS

<140>

<141>

<150> JP No. 10-322674

<151> 1998-11-12

10 <160> 4

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 424

<212> PRT

15 <213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ser Asp His Gly Asp Val Ser Leu Pro Pro Glu Asp Arg Val Arg

1 5 10 15

Ala Leu Ser Gln Leu Gly Ser Ala Val Glu Val Asn Glu Asp Ile Pro

20 20 25 30

Pro Arg Arg Tyr Phe Arg Ser Gly Val Glu Ile Ile Arg Met Ala Ser

35 40 45

Ile Tyr Ser Glu Glu Gly Asn Ile Glu His Ala Phe Ile Leu Tyr Asn

50 55 60

25 Lys Tyr Ile Thr Leu Phe Ile Glu Lys Leu Pro Lys His Arg Asp Tyr

65 70 75 80

Lys Ser Ala Val Ile Pro Glu Lys Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Lys

85 90 95

Glu Ile Ala Phe Pro Lys Ala Glu Glu Leu Lys Ala Glu Leu Leu Lys
100 105 110
Arg Tyr Thr Lys Glu Tyr Thr Glu Tyr Asn Glu Glu Lys Lys Lys Glu
115 120 125
5 Ala Glu Glu Leu Ala Arg Asn Met Ala Ile Gln Gln Glu Leu Glu Lys
130 135 140
Glu Lys Gln Arg Val Ala Gln Gln Lys Gln Gln Gln Leu Glu Gln Glu
145 150 155 160
Gln Phe His Ala Phe Glu Glu Met Ile Arg Asn Gln Glu Leu Glu Lys
10 165 170 175
Glu Arg Leu Lys Ile Val Gln Glu Phe Gly Lys Val Asp Pro Gly Leu
180 185 190
Gly Gly Pro Leu Val Pro Asp Leu Glu Lys Pro Ser Leu Asp Val Phe
195 200 205
15 Pro Thr Leu Thr Val Ser Ser Ile Gln Pro Ser Asp Cys His Thr Thr
210 215 220
Val Arg Pro Ala Lys Pro Pro Val Val Asp Arg Ser Leu Lys Pro Gly
225 230 235 240
Ala Leu Ser Asn Ser Glu Ser Ile Pro Thr Ile Asp Gly Leu Arg His
20 245 250 255
Val Val Val Pro Gly Arg Leu Cys Pro Gln Phe Leu Gln Leu Ala Ser
260 265 270
Ala Asn Thr Ala Arg Gly Val Glu Thr Cys Gly Ile Leu Cys Gly Lys
275 280 285
25 Leu Met Arg Asn Glu Phe Thr Ile Thr His Val Leu Ile Pro Lys Gln
290 295 300
Ser Ala Gly Ser Asp Tyr Cys Asn Thr Glu Asn Glu Glu Glu Leu Phe
305 310 315 320

Leu Ile Gln Asp Gln Gln Gly Leu Ile Thr Leu Gly Trp Ile His Thr
 325 330 335
 His Pro Thr Gln Thr Ala Phe Leu Ser Ser Val Asp Leu His Thr His
 340 345 350
 5 Cys Ser Tyr Gln Met Met Leu Pro Glu Ser Val Ala Ile Val Cys Ser
 355 360 365
 Pro Lys Phe Gln Glu Thr Gly Phe Phe Lys Leu Thr Asp His Gly Leu
 370 375 380
 Glu Glu Ile Ser Ser Cys Arg Gln Lys Gly Phe His Pro His Ser Lys
 10 385 390 395 400
 Asp Pro Pro Leu Phe Cys Ser Cys Ser His Val Thr Val Val Asp Arg
 405 410 415
 Ala Val Thr Ile Thr Asp Leu Arg
 420

15 <210> 2

<211> 1910

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<221> CDS

20 <222> 11..1282

<400> 2

cttggtcctg atgtctgacc atggagatgt gagcctcccg cccgaagacc gggtaggggc 60
 tctctcccag ctgggtagtg cggtagaggt gaatgaagac attccacccc gtcggtactt 120
 ccgctctgga gttgagatta tccgaatggc atccatttac tctgaggaag gcaacattga 180
 25 acatgccttc atcctctata acaagtatat cacgctcttt attgagaaac taccaaaaca 240
 tcgagattac aaatctgctg tcattcctga aaagaaagac acagtaaaga aattaaagga 300
 gattgcattt cccaaagcag aagagctgaa ggcagagctg ttaaaacgat ataccaaaga 360
 atatacagaa tataatgaag aaaagaagaa ggaagcagag gaattggccc ggaacatggc 420

catccagcaa gagctggaaa aggaaaaaca gagggtagca caacagaagc agcagcaatt 480
ggaacaggaa cagttccatg ccttcgagga gatgatccgg aaccaggagc tagaaaaaga 540
gcgactgaaa attgtacagg agtttgggaa ggtagaccct ggcctagggtg gcccgctagt 600
gcctgacttg gagaagccct ccttagatgt gttccccacc ttaacagtct catccatata 660
5 gccttcagac tgtcacacaa ctgtaaggcc agctaagcca cctgtgggtg acaggtcctt 720
gaaacctgga gcactgagca actcagaaag tattcccaca atcgatggat tgcgccatgt 780
ggtggtgcct gggcggctgt gccacagtt tctccagtta gccagtcca aactgcccg 840
gggagtggag acatgtggaa ttctctgttg aaaactgatg aggaatgaat ttaccattac 900
ccatgtttct atcccaagc aaagtgctgg gtctgattac tgcaacacag agaacgaaga 960
10 agaacttttc ctcatcagg atcagcaggg cctcatcaca ctgggctgga ttcatactca 1020
ccccacacag accgcgttct tctccagtgt cgacctacac actcactgct cttaccagat 1080
gatgttgcca gagtcagtag ccattgtttg ctcccccaag ttccaggaaa ctggattctt 1140
taaactaact gaccatggac tagaggagat ttcttctgt cgccagaaag gatttcatcc 1200
acacagcaag gatccacctc tgttctgtag ctgcagccac gtgactgttg tggacagagc 1260
15 agtgaccatc acagaccttc gatgagcgtt tgagtccaac acctccaag aacaacaaaa 1320
ccatatcagt gtactgtagc cccttaattt aagctttcta gaaagctttg gaagtttttg 1380
tagatagtag aaaggggggc atcacctgag aaagagctga tttgtattt caggtttgaa 1440
aagaaataac tgaacatatt ttttaggcaa gtcagaaaga gaacatggtc acccaaaagc 1500
aactgtaact cagaaattaa gttactcaga aattaagtag ctcaaaaatt aagaaagaat 1560
20 ggtataatga acccccatat acccttcctt ctggattcac caattgttaa catttttttc 1620
ctctcagcta tccttctaatt ttctctctaa ttcaatttg tttatattta cctctgggct 1680
caataagggc atctgtgcag aaatttggaa gccattttaga aaatcttttg gattttcctg 1740
tggtttatgg caatatgaat ggagcttatt actggggtga gggacagctt actccatttg 1800
accagattgt ttggctaaca catcccgaag aatgattttg tcaggaatta ttgttattta 1860
25 ataaatattt caggatattt ttctctaca ataaagtaac aattaactta 1910

<210> 3

<211> 424

<212> PRT

<213> mous

<400> 3

Met Ser Asp His Gly Asp Val Ser Leu Pro Pro Gln Asp Arg Val Arg
1 5 10 15
5 Ile Leu Ser Gln Leu Gly Ser Ala Val Glu Leu Asn Glu Asp Ile Pro
20 25 30
Pro Arg Arg Tyr Tyr Arg Ser Gly Val Glu Ile Ile Arg Met Ala Ser
35 40 45
Val Tyr Ser Glu Glu Gly Asn Ile Glu His Ala Phe Ile Leu Tyr Asn
10 50 55 60
Lys Tyr Ile Thr Leu Phe Ile Glu Lys Leu Pro Lys His Arg Asp Tyr
65 70 75 80
Lys Ser Ala Ile Ile Pro Glu Lys Lys Asp Ala Val Lys Lys Leu Lys
85 90 95
15 Ser Val Ala Phe Pro Lys Ala Glu Glu Leu Lys Thr Glu Leu Leu Arg
100 105 110
Arg Tyr Thr Lys Glu Tyr Glu Gln Tyr Lys Glu Arg Lys Lys Lys Glu
115 120 125
Glu Glu Glu Leu Ala Arg Asn Ile Ala Ile Gln Gln Glu Leu Glu Lys
20 130 135 140
Glu Lys Gln Arg Val Ala Gln Gln Lys Gln Lys Gln Leu Glu Gln Glu
145 150 155 160
Gln Phe His Ala Phe Glu Glu Met Ile Gln Arg Gln Glu Leu Glu Lys
165 170 175
25 Glu Arg Leu Lys Ile Val Gln Glu Phe Gly Lys Val Asp Pro Gly Pro
180 185 190
Cys Gly Pro Leu Leu Pro Asp Leu Glu Lys Pro Cys Val Asp Val Ala
195 200 205

Pro Ser Ser Pro Phe Ser Pro Thr Gln Thr Pro Asp Cys Asn Thr Gly
210 215 220

Met Arg Pro Ala Lys Pro Pro Val Val Asp Arg Ser Leu Lys Pro Gly
225 230 235 240

5 Ala Leu Ser Val Ile Glu Asn Val Pro Thr Ile Glu Gly Leu Arg His
245 250 255

Ile Val Val Pro Arg Asn Leu Cys Ser Glu Phe Leu Gln Leu Ala Ser
260 265 270

Ala Asn Thr Ala Lys Gly Ile Glu Thr Cys Gly Val Leu Cys Gly Lys
10 275 280 285

Leu Met Arg Asn Glu Phe Thr Ile Thr His Val Leu Ile Pro Arg Gln
290 295 300

Asn Gly Gly Pro Asp Tyr Cys His Thr Glu Asn Glu Glu Glu Ile Phe
305 310 315 320

15 Phe Met Gln Asp Asp Leu Gly Leu Leu Thr Leu Gly Trp Ile His Thr
325 330 335

His Pro Thr Gln Thr Ala Phe Leu Ser Ser Val Asp Leu His Thr His
340 345 350

Cys Ser Tyr Gln Met Met Leu Pro Glu Ser Ile Ala Ile Val Cys Ser
20 355 360 365

Pro Lys Phe Gln Glu Thr Gly Phe Phe Lys Leu Thr Asp Tyr Gly Leu
370 375 380

Gln Glu Ile Ser Thr Cys Arg Gln Lys Gly Phe His Pro His Gly Arg
385 390 395 400

25 Asp Pro Pro Leu Phe Cys Asp Cys Ser His Val Thr Val Lys Asp Arg
405 410 415

Ile Val Thr Ile Thr Asp Leu Arg
420

<210> 4

<211> 1384

<212> DNA

<213> homosapiens

5 <221> CDS

<222> 56..1327

<400> 4

gtgacgtttc cggaagctct gactgtcatc cttcacgaaa gaacttattt gtccaatgtc 60
tgaccatggg gatgtgagcc tcccacccca agaccgggtg aggattctgt cccaacttgg 120
10 gagtgcagtt gagttaaatg aagacattcc acccgtcgc tactaccgct ccggtgttga 180
gatcatccgc atggcgtccg tttactcgga agaaggcaac attgaacatg cttttatcct 240
ctacaacaag tacatcacgc tgtttattga aaaacttccg aaacaccgag actacaaatc 300
agctatcatt cctgagaaga aagatgctgt caagaaatta aagagcgtcg ctttccctaa 360
agcgggaagag ctgaagacag agctcttgag aagatacacc aaagaatatg agcagtataa 420
15 agagcgaaaag aaaaaggaag aagaggaact tgcccgaat atcgccatcc agcaagagtt 480
ggaaaaagaa aaacagaggg ttgctcagca gaagcagaag cagctagagc aggagcaatt 540
ccatgccttt gaggagatga tccagaggca ggagctggaa aaagaacggc tgaaaattgt 600
tcaagagttc gggaaggtag accctggccc ctgcgggcct ctgctccctg atctggaaaa 660
gccttgtgta gatgtggccc ccagctcacc gttctcgccc acgcagactc cagactgtaa 720
20 cacaggcatg aggccagcta agccacctgt ggtggacagg tccctgaaac ctggagcgtt 780
aagcgtcata gaaaatgttc ccaccattga aggcctgcgc cacatcgtgg tgccccgtaa 840
tctgtgctca gaatttctcc agcttgccag tgccaatacc gccaaaggca ttgaaacctg 900
tggagtcctc tgtggaaaac tgatgagaaa tgaattcaca atcacacatg ttctcatccc 960
cagacaaaat ggtgggcctg attattgcca cacggagaat gaagaagaaa ttttctttat 1020
25 gcaggatgac cttggactcc tcaactcttg ctggatccat actcatcaa cccaaacggc 1080
ctttctgtcc agtgtggatc tccacactca ctgctcctac caaatgatgt taccagagtc 1140
catcgcaatc gtcgttccc caaagttcca ggaaactgga ttctttaagc taactgacta 1200
tggctctcaa gagatttcaa cctgccggca gaaaggcttt ccccccatg gcagagaccc 1260

accgctgttc tgtgactgca gccatgtcac tgtcaaggac agaattgtga cgatcacaga 1320

ccttcgataa atctcaaata atgaaccagg gagatggatc actgggtaac agcacttgtc 1380

acca 1384

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/06309

| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl ⁷ C07K 14/47, C12N 15/12, C07K 16/18, C12P 21/08 // C12N 1/21, C12P 21/02, (C12N 15/12, C12R 1:91), (C12P 21/02, C12R 1:19) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC | | |
|---|---|---|
| B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl ⁷ C12N 15/00-90, C07K 14/00-16/46, C12P 21/00-08, C12N 1/00-38 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) MEDLINE (STN), Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG) | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| PX PY | Kazuo Sugamura et al., "Possible involvement of a novel STAM-associated molecule "AMSH" in intracellular signal transduction mediated by cytokines", J. Biol. Chem. (July 1999), Vol. 274, No. 27, p. 19129-19135 | 1-6 7-12 |
| X | Wei Yu et al., "Large-scale concatenation cDNA sequencing", Genome Research (1997), Vol. 7, No. 4, p. 353-358 | 4, 5, 10, 11 |
| X | Meredith A. Wentland et al., "A Double Adaptor" method for improved shotgun library construction", Analytical Biochemistry (1996), Vol. 236, No. 1, p. 107-113 | 4, 5, 10, 11 |
| A | Sugamura K. et al., "STAM, signal transducing adaptor molecule, is associated with Janus kinases and involved in signaling for cell growth and c-myc induction", Immunity (1997), Vol. 6, No. 4, p. 449-457 | 1-12 |
| <input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex. | | |
| * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family | | |
| Date of the actual completion of the international search 22 February, 2000 (22.02.00) | | Date of mailing of the international search report 14 March, 2000 (14.03.00) |
| Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office | | Authorized officer |
| Facsimile No. | | Telephone No. |

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ C07K 14/47, C12N 15/12, C07K 16/18, C12P 21/08 //
C12N 1/21, C12P 21/02, (C12N 15/12, C12R 1:91), (C12P 21/02, C12R 1:19)

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ C12N 15/00~90, C07K 14/00~16/46, C12P 21/00~08, C12N 1/00~38

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

MEDLINE (STN), Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-------------------|---|--------------------|
| $\frac{P X}{P Y}$ | Kazuo Sugamura et al., "Possible involvement of a novel STAM-associated molecule "AMSH" in intracellular signal transduction mediated by cytokines", J. Biol. Chem. (July 1999), Vol. 274, No. 27, p. 19129-19135 | $\frac{1-6}{7-12}$ |
| X | Wei Yu et al., "Large-scale concatenation cDNA sequencing", Genome Research (1997), Vol. 7, No. 4, p. 353-358 | 4, 5, 10, 11 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

22.02.00

国際調査報告の発送日

14.03.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齋藤 真由美

4 B

8931

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|---|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| X | Meredith A.Wentland et al., "A "Double Adaptor" method for improved shotgun library construction", Analytical Biochemistry (1996), Vol.236 , No.1 , p.107-113 | 4, 5, 10, 11 |
| A | Sugamura K.et al., "STAM, signal transducing adaptor molecule, is associated with Janus kinases and involved in signaling for cell growth and c-myc induction", Immunity(1997) , Vol.6 , No.4 , p.449-457 | 1 - 1 2 |